



TRABAJO PRÁCTICO N°1
ENZIMAS: CARACTERES GENERALES. FACTORES QUE AFECTAN LA ACTIVIDAD
ENZIMÁTICA. ENZIMAS REGULADORAS.

PROBLEMAS PROPUESTOS

1. ¿Qué ventaja tiene para el organismo que algunas enzimas se sintetizen como zimógenos?

Los zimógenos son precursores inactivos de las enzimas. Son proteínas simples que se convierten en la enzima activa por un proceso de hidrólisis. Por ejemplo la presencia de tripsinógeno (precursor inactivo de la enzima tripsina) en el interior del páncreas, evita que esta enzima en estado activo destruya la glándula.

2. Usted está tratando de determinar el K_m para una enzima. Debido a un contratiempo en el laboratorio, tiene solamente dos datos utilizables:

Concentración de sustrato (μM)	Velocidad de la reacción ($\mu\text{M} \cdot \text{s}^{-1}$)
1	5
100	50

Utilice estos datos para calcular un valor aproximado de K_m

Al comparar dos puntos de datos parece que cuando la concentración de sustrato = $100 \mu\text{M}$, la velocidad es cercana a la $V_{\text{máx}}$, dado que un incremento de 100 veces en la concentración de sustrato sólo produce un aumento de 10 veces en la velocidad de la reacción. Por lo tanto la $V_{\text{máx}}$ es $50 \mu\text{M} \cdot \text{s}^{-1}$.

Aplicando la ecuación de Michaelis – Menten

$$V_0 = \frac{V_{\text{máx}}[S]}{K_m + [S]}$$

$$\begin{aligned} V_0 &= 5 \mu\text{M} \cdot \text{s}^{-1} \\ V_{\text{máx}} &= 50 \mu\text{M} \cdot \text{s}^{-1} \\ K_m &= \\ [S] &= 1 \mu\text{M}, \end{aligned}$$

Despejando K_m

$$K_m = \frac{V_{\text{máx}} \cdot [S]}{V_0} - [S] = \frac{50 \mu\text{M} \cdot \text{s}^{-1} \cdot 1 \mu\text{M}}{5 \mu\text{M} \cdot \text{s}^{-1}} - 1 \mu\text{M} = 9 \mu\text{M}$$



El valor aproximado de K_m es $9 \mu M$

3. Sobre la base de mediciones experimentales preliminares, usted sospecha que una muestra de enzima contiene un inhibidor irreversible. Usted decide diluir la muestra 100 veces y volver a medir la actividad enzimática. ¿Qué mostrarían sus resultados?

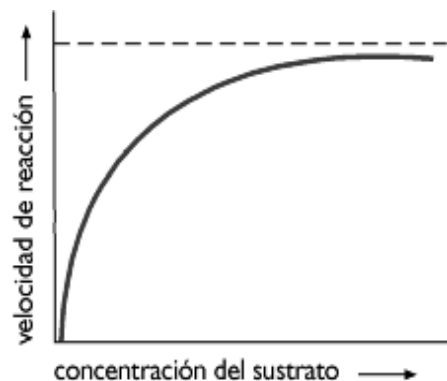
Si un inhibidor irreversible está presente, la actividad de la solución enzimática será exactamente 100 veces menor cuando la muestra está diluida 100 veces. La dilución no cambiaría en forma significativa el grado de inhibición de la enzima.

4. Realice un cuadro sobre los distintos mecanismos de regulación e indique cuál de ellos puede ser mediato e inmediato.

MECANISMOS DE REGULACION	REGULACIÓN INMEDIATA	REGULACIÓN MEDIATA
Enzimas alostéricas	Inmediata	
Enzimas reguladas por modificación covalente	Inmediata o minutos	
Inducción y represión de la síntesis de enzimas		Mediata (horas o días)

5. Esta gráfica representa la variación de la velocidad de reacción frente a la concentración del sustrato; indique cuál de los enunciados que abajo se detallan explican por qué la curva alcanza una meseta y la velocidad no sigue aumentando para mayores concentraciones de sustrato.

- a) Hay un inhibidor competitivo presente
- b) Hay un inhibidor no competitivo presente
- c) La enzima alostérica está bloqueada en una conformación inactiva
- d) A $V_{m\acute{a}x}$ todos los sitios catalíticos de la enzima están ocupados por el sustrato.



Rta: Opción d (A $V_{m\acute{a}x}$ todos los sitios catalíticos de la enzima están ocupados por el sustrato)